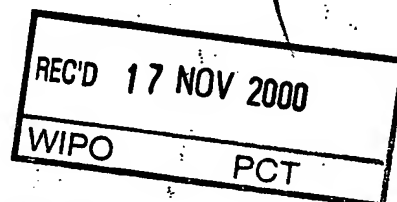


ES 00/00335

OFICINA ESPAÑOLA

de

PATENTES y MARCAS



CERTIFICADO OFICIAL

Por la presente certifico que los documentos adjuntos son copia exacta de la solicitud de PATENTE de INVENCION número 9902013, que tiene fecha de presentación en este Organismo el 3 de Septiembre de 1999.

Madrid, 27 de octubre de 2000

El Director del Departamento de Patentes
e Información Tecnológica.

P.D.

M. MADRUGA

INSTANCIA DE SOLICITUD DE:

☒ PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD

NUMERO DE SOLICITUD

GENERALITAT DE CATALUNYA
DEPARTAMENT D'INDUSTRIA,
COMERC I TURISME

FECHA Y HORA DE PRESENTACION EN O.E.P.M.

03 SET. 1999

CIDEM

FECHA Y HORA DE PRESENTACION EN LUGAR DISTINTO O.E.P.M.
Provença, 339 - 08037-Barcelona

| | | | | | |
|---|--|--|--------|---|--|
| (1) SOLICITUD DE ADICION SOLICITUD DIVISIONAL CAMBIO DE MODALIDAD TRANSFORMACION SOLICITUD EUROPEA | | (2) EXPED. PRINCIPAL O DE ORIGEN MODALIDAD NUMERO SOLICITUD FECHA SOLICITUD MODALIDAD NUMERO SOLICITUD FECHA SOLICITUD | | (3) LUGAR DE PRESENTACION CODIGO MADRID 28 | |
| (4) SOLICITANTE(S) | | APELLIDOS O DENOMINACION JURIDICA | | NOMBRE | |
| J. URIACH & CIA, S.A. | | OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Dpto. SECRETARIA GENERAL REPROGRAFIA Panamá, 1 - Madrid 28071 | | DNI | |
| (5) DATOS DEL PRIMER SOLICITANTE | | | | | |
| DOMICILIO DEGÀ BAHI, 59-67 | | | | | |
| LOCALIDAD BARCELONA | | | | | |
| PROVINCIA | | | | | |
| PAIS RESIDENCIA ESPAÑA | | | | | |
| NACIONALIDAD ESPAÑOLA | | | | | |
| TELEFONO | | | | | |
| CODIGO POSTAL 08026 | | | | | |
| CODIGO PAIS ES | | | | | |
| CODIGO NACION ES | | | | | |
| (6) INVENTOR(ES) | | | | | |
| (7) <input type="checkbox"/> EL SOLICITANTE ES EL INVENTOR <input checked="" type="checkbox"/> EL SOLICITANTE NO ES EL INVENTOR O UNICO INVENTOR | | | | | |
| (8) MODO DE OBTENCION DEL DERECHO <input type="checkbox"/> INVENC. LABORAL <input checked="" type="checkbox"/> CONTRATO <input type="checkbox"/> SUCESION | | | | | |
| APELLIDOS | | NOMBRE | | NACIONALIDAD | |
| GALLARDO | | ALBERTO | | ESPAÑOLA | |
| RODRIGUEZ | | GEMA | | ESPAÑOLA | |
| SAN ROMAN | | JULIO | | ESPAÑOLA | |
| (9) TITULO DE LA INVENCION | | | | | |
| "NUEVOS SISTEMAS POLIMERICOS BIOCOMPATIBLES PORTADORES DE TRIFLUSAL O HTB" | | | | | |
| (10) INVENCION REFERENTE A PROCEDIMIENTO MICROBIOLOGICO SEGUN ART. 25.2 L.P. <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO | | | | | |
| (11) EXPOSICIONES OFICIALES | | | | | |
| LUGAR FECHA | | | | | |
| (12) DECLARACIONES DE PRIORIDAD | | | | | |
| PAIS DE ORIGEN | | COD PAIS | NUMERO | FECHA | |
| | | | | | |
| (13) EL SOLICITANTE SE ACOGE A LA EXENCION DE PAGO DE TASAS PREVISTA EN EL ART. 162 L.P. <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO | | | | | |
| (14) REPRESENTANTE | | APELLIDOS | | NOMBRE | |
| | | ISERN JARA | | JATME | |
| DOMICILIO | | LOCALIDAD | | CODIGO | |
| AVD. DIAGONAL, 463 BIS 2º | | BARCELONA | | BARCELONA | |
| (15) RELACION DE DOCUMENTOS QUE SE ACOMPAÑAN | | | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> DESCRIPCION. N.º DE PAGINAS... 15 <input checked="" type="checkbox"/> REIVINDICACIONES. N.º DE PAGINAS... 3 <input checked="" type="checkbox"/> DIBUJOS. N.º DE PAGINAS... 8 <input checked="" type="checkbox"/> RESUMEN <input type="checkbox"/> DOCUMENTO DE PRIORIDAD <input type="checkbox"/> TRADUCCION DEL DOCUMENTO DE PRIORIDAD <input checked="" type="checkbox"/> DOCUMENTO DE REPRESENTACION <input type="checkbox"/> PRUEBAS <input checked="" type="checkbox"/> JUSTIFICANTE DEL PAGO DE TASAS <input type="checkbox"/> HOJA DE INFORMACIONES COMPLEMENTARIAS <input type="checkbox"/> OTROS | | | | | |
| (16) NOTIFICACION DE PAGO DE LA TASA DE CONCESION | | | | | |
| Se le notifica que esta solicitud se considerará retirada si no procede al pago de la tasa de concesión; para el pago de esta tasa dispone de tres meses a contar desde la publicación del anuncio de la concesión en el BOPÍ, más los diez días que establece el art. 81 del R.D. 10-10-86. | | | | | |
| | | | | FIRMA DEL FUNCIONARIO | |
| | | | | FIRMA DEL SOLICITANTE O REPRESENTANTE | |

ILMO. SR. DIRECTOR DE LA OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

CUMPLIMENTAR LOS TRES EJEMPLARES SALVO ZONAS EN ROJO

| | | | |
|-----------|----------|---------|--------------------------|
| 31 NUMERO | 32 FECHA | 33 PAIS | A PATENTE DE INVENCION |
| | | | 21 NUMERO DE SOLICITUD |
| | | | 22 FECHA DE PRESENTACION |

| | |
|---|--------------------------|
| 71 SOLICITANTE(S) J. URIACH & CIA, S.A. | NACIONALIDAD ESPAÑOLA |
| DOMICILIO DEGÀ BÀHL, 59-67 08026 BARCELONA | |

| |
|--|
| 72 INVENTOR(ES) ALBERTO GALLARDO; GEMA RODRIGUEZ; JULIO SAN ROMAN |
|--|

| |
|----------------|
| 73 TITULAR(ES) |
|----------------|

| | | | |
|---|-------------------------|--------------------------------------|---|
| 11 N.º DE PUBLICACION | 45 FECHA DE PUBLICACION | 62 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA | GRAFICO (SOLO PARA INTERPRETAR RESUMEN) |
| 51 Int. Cl. | | | |
| 54 TITULO "NUEVOS SISTEMAS POLIMERICOS BIOCOMPATIBLES PORTADORES DE TRIFLUSAL O HTB" | | | |

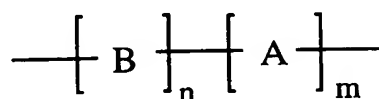
| |
|--|
| 57 RESUMEN (APORTACION VOLUNTARIA, SIN VALOR JURIDICO) |
| <p>NUEVOS SISTEMAS POLIMERICOS BIOCOMPATIBLES PORTADORES DE TRIFLUSAL O HTB.</p> <p>Se describen nuevos sistemas poliméricos biocompatibles portadores de triflusal o HTB resultantes de la polimerización de un monómero A de tipo acrílico o vinílico portador de triflusal o HTB, en el que el triflusal o el HTB se hallan unidos al resto de la molécula de dicho monómero a través de un enlace covalente hidrolizable in vivo, y opcionalmente de un segundo monómero B polimerizable. Estos nuevos sistemas poliméricos son útiles como recubrimiento de biomateriales sintéticos.</p> |

comercializado para el tratamiento de enfermedades tromboembólicas. Su principal metabolito, conocido por las siglas HTB y de nombre químico el ácido 2-hidroxi-4-trifluorometilbenzoico, posee también una notable actividad como antiagregante plaquetario. Ambos compuestos se hallan descritos en la patente
 5 US 4,096,252.

La presente invención proporciona una nueva serie de derivados poliméricos biocompatibles portadores de triflusal o HTB que, aplicados como recubrimiento de dispositivos protésicos, mejoran las propiedades trombogénicas de los mismos al ser portadores de compuestos con actividad
 10 antiagregante plaquetaria.

Explicación de la invención.

Es objeto de la presente invención un compuesto polimérico de fórmula
 general relativa I



(I)

15 donde:

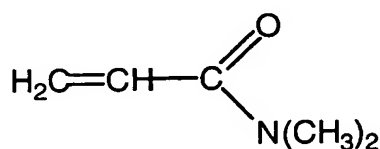
A representa un residuo de un monómero de tipo acrílico o vinílico; portador de triflusal o HTB, donde el triflusal o el HTB se hallan unidos al resto de la molécula del monómero a través de un enlace covalente hidrolizable *in vivo*;

20 B representa un residuo de un segundo monómero polimerizable;

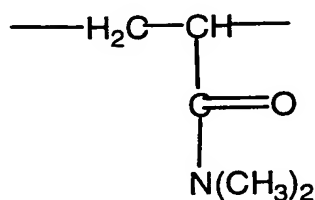
m y n indican las fracciones molares de los monómeros A y B en el polímero de modo que $m + n$ es siempre 1 y siendo m siempre distinto de 0; y donde la distribución de las unidades A y B en el polímero es al azar.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento de
 25 preparación de un compuesto polimérico de fórmula I caracterizado porque comprende la polimerización radical de un monómero A y opcionalmente un segundo monómero B en las proporciones molares m y n, respectivamente, en presencia de un iniciador de la polimerización, en el seno de un disolvente adecuado.

A lo largo de la presente descripción y especialmente en la fórmula I, se entiende por residuo de un monómero polimerizable, ya sea acrílico, vinílico u de otro tipo, el residuo resultante de la polimerización del correspondiente monómero. Así, a título de ejemplo, si el monómero polimerizable correspondiente a B es N,N-dimetilacrilamida, en la fórmula I B representa de hecho el residuo una vez polimerizado de dicho monómero, tal como se muestra a continuación:



monómero polimerizable precursor
de B en la fórmula I



B (residuo del monómero ya
polimerizado)"

10 Excepto que se especifique otra cosa, se utilizará la nomenclatura A y B a lo largo de la presente descripción para referirse indistintamente al monómero polimerizable o al correspondiente residuo ya polimerizado dentro del polímero de fórmula I.

15 En la fórmula I, A representa un residuo de cualquier monómero de tipo acrílico o vinílico que sea portador de triflusal o HTB. Por portador se entiende que contenga la molécula de triflusal o HTB unida al resto de tipo acrílico o vinílico a través de un enlace covalente que sea hidrolizable *in vivo*, es decir en condiciones fisiológicas.

20 En cuanto a B, éste representa un residuo de un segundo monómero polimerizable, de modo que cuando B está presente en un compuesto polimérico de fórmula I (es decir, cuando n es distinto de 0) el compuesto resultante es un copolímero, mientras que cuando B está ausente (es decir, cuando n es 0) el compuesto resultante es un homopolímero. Ejemplos de posibles significados para B incluyen entre otros el metacrilato de 2-
25 hidroxietilo, el metacrilato de metilo, acrilato de metilo, vinilpirrolidona, ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilamida, N,N-dimetilacrilamida y acetato de vinilo. Asimismo, el monómero B puede ser también otro monómero

Un grupo especialmente preferido de compuestos de la presente invención son aquellos compuestos de fórmula Ia donde R_1 representa metilo y p representa 1.

Un grupo particularmente preferido de compuestos son aquellos compuestos de fórmula Ia donde R_1 representa metilo; p representa 1 y n representa 0.

Otro grupo particularmente preferido de compuestos son aquellos compuestos de fórmula Ia donde R_1 representa metilo; p representa 1 y n es distinto de 0. Dentro de este grupo de compuestos, son preferidos aquellos compuestos donde B representa un residuo de metacrilato de 2-hidroxietilo; metacrilato de metilo, acrilato de metilo, vinilpirrolidona, ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilamida, N,N-dimetilacrilamida o acetato de vinilo, y es especialmente preferido el subgrupo de compuestos donde B representa un residuo de N,N-dimetilacrilamida; un compuesto preferido dentro de este subgrupo es aquel que corresponde a una fracción molar donde m es 0.2 y n es 0.8.

El peso molecular de los compuestos poliméricos de la presente invención puede variar dentro de un amplio margen, siendo preferidos para la aplicación como recubrimiento de biomateriales sintéticos aquellos compuestos poliméricos de fórmula I con un peso molecular medio entre 10000 y 100000 Daltons.

Los compuestos poliméricos de fórmula I se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos conocidos de polimerización radical. Por ejemplo, se pueden preparar mediante polimerización en solución del monómero o monómeros deseados en el seno de un disolvente adecuado en presencia de un iniciador de la polimerización.

Como iniciador puede utilizarse cualquiera de los compuestos descritos en la literatura para tales fines, por ejemplo, peróxido de benzoílo, peróxido de lauroílo, peróxido de cumilo, perbenzoato de butilo, 2,2'-azobisisobutironitrilo ó ácido 2,2'-azobisisopentanoico, siendo preferidos el peróxido de benzoílo y el 2,2'-azobisisobutironitrilo. La proporción de iniciador a utilizar dependerá del peso molecular deseado, y podrá ser fácilmente determinada por un entendido

biomateriales sintéticos, mejorando así las propiedades de los mismos. Los recubrimientos se pueden preparar en general mediante inmersión de la superficie a recubrir en una disolución diluida, por ejemplo de un 1-2% p/v, del polímero deseado en un disolvente adecuado tal como por ejemplo dimetilformamida, mezclas agua/etanol o mezclas dioxano/etanol.

Breve descripción de las figuras:

La Figura 1 muestra el esquema de síntesis del monómero portador de triflusal descrito en el ejemplo 1;

La Figura 2 muestra el esquema de síntesis del polímero descrito en el ejemplo 2;

La Figura 3 muestra el espectro de RMN de ^1H (3A) y de ^{13}C (3B) del polímero del ejemplo 2;

La Figura 4 muestra el esquema de síntesis del polímero descrito en el ejemplo 3;

La Figura 5 muestra el espectro de RMN de ^1H (5A) y de ^{13}C (5B) del polímero del ejemplo 3;

La Figura 6 muestra la liberación de HTB del polímero del ejemplo 3 en plasma de rata siguiendo el método descrito en el ejemplo 4.

Los siguientes ejemplos se incluyen a título ilustrativo de la preparación y aplicaciones de los compuestos de la presente invención y de ningún modo deben interpretarse como limitando el ámbito de la invención.

Ejemplo 1: Síntesis del 2-acetiloxi-4-(trifluorometil)benzoato de 2-(metacrililoiloxi)etilo (THEMA)

La síntesis de este compuesto se halla ilustrada en el esquema de la Fig. 1.

a) Cloruro del ácido 2-acetiloxi-4-(trifluorometil)benzoico

En un matraz de fondo redondo se hacen reaccionar 0.1 moles de triflusal con 70 mL de SOCl_2 , el matraz se conecta a un refrigerante y se mantiene la reacción a reflujo durante 4 h, bajo agitación magnética. Al cabo de

por tanto la concentración de la disolución 0.5M. A continuación se añade peróxido de benzoílo como iniciador (1.5×10^{-2} M); para la disolución descrita anteriormente se requieren por tanto 100.8 mg. El siguiente paso es desplazar el oxígeno de la disolución haciendo pasar corriente de nitrógeno (30 min) dos veces.

Los frascos cerrados se introducen en un baño termostatzado a 60°C durante 24 h. Una vez llevada a cabo la polimerización, se precipita el polímero en exceso de etanol; para precipitar 5 g de polímero se utilizan 500 mL de etanol, sobre los cuales se añade gota a gota la disolución del polímero. Esta etapa se lleva a cabo en baño de hielo. Se mantiene la solución con agitación constante durante 4 h y a continuación se filtra al vacío. El precipitado obtenido se lava varias veces con etanol y se vuelve a filtrar, y a continuación se seca al vacío hasta pesada constante. El rendimiento de la reacción es de un 90%.

La determinación por cromatografía de permeación de geles (GPC) del peso molecular promedio de este polímero da un valor de 48000 Daltons, con un índice de polidispersidad M_w/M_n de 1.8.

Los espectros de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , 45°C) y de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6 , 45°C) del compuesto polimérico obtenido en este ejemplo se muestran en la Fig. 3 (A y B).

Ejemplo 3: Síntesis de un copolímero a partir de THEMA y N,N-dimetilacrilamida (DMA) (poli[THEMA-co-DMA])

La estructura de este copolímero y su preparación se muestran en el esquema de la Fig. 4.

Se disuelve 1 g de THEMA (obtenido en el ejemplo 1) y 1 g de DMA en 25.75 mL de dioxano purificado (0.5 M). A continuación se adiciona 46.75 mg de peróxido de benzoílo a una concentración 1.5×10^{-2} M y se desplaza el oxígeno de la disolución haciendo pasar corriente de N_2 dos veces durante 30 minutos.

Se introduce el frasco cerrado en un baño termostatzado a 60°C durante 24 h, al cabo de las cuales se lleva a cabo la precipitación del polímero añadiendo la solución del mismo gota a gota en 1 L de éter dietílico. Se mantiene esta solución con agitación constante durante 4 h al cabo de las cuales

hidrólisis del triflusal en medios acuosos para dar su metabolito, el HTB, se realizó el seguimiento por HPLC de la liberación de HTB.

El polímero pulverizado se disuelve en metanol y se preparan disoluciones de concentración 0.96 mg/mL, equivalentes a una concentración total de HTB de 1.4 mM. Paralelamente, se lleva a cabo el mismo ensayo con soluciones stock de HTB para obtener una recta de calibrado adecuada. Las concentraciones de HTB utilizadas para ello son: 1.25 mM, 1.5 mM, 6.2 mM y 9.3 mM.

c) Ensayo de liberación

Una vez obtenido el plasma de rata como se ha especificado en el apartado a), se divide en volúmenes de 0.2 mL que se reparten en tubos de polipropileno, a cada uno de los cuales se añade 10 µL de disolución del polímero correspondiente. Se introduce la batería de tubos en un baño a 37 °C y con agitación constante y se toman muestras a distintos tiempos, las cuales se analizan mediante HPLC, utilizando las siguientes condiciones:

- Columna C-18 de Waters µBoundapak 3.9x300 mm;
- Bomba Perkin Elmer LC-250;
- Detector UV/Vis Perkin-Elmer LC-95; $\lambda = 305$ nm.
- Registrador Waters 770 Data Module

- Fase móvil: disolución acuosa de Pic A- metanol, 60:40, microfiltrada y desgasificada.

Antes de ser analizadas las muestras por HPLC se lleva a cabo un pretratamiento precipitando las proteínas plasmáticas con metanol 1:5, seguido de centrifugación a 15000 rpm durante 10 min. El sobrenadante se mezcla con un volumen igual de fase móvil, se microfiltra y se inyecta en el cromatógrafo.

d) Resultados

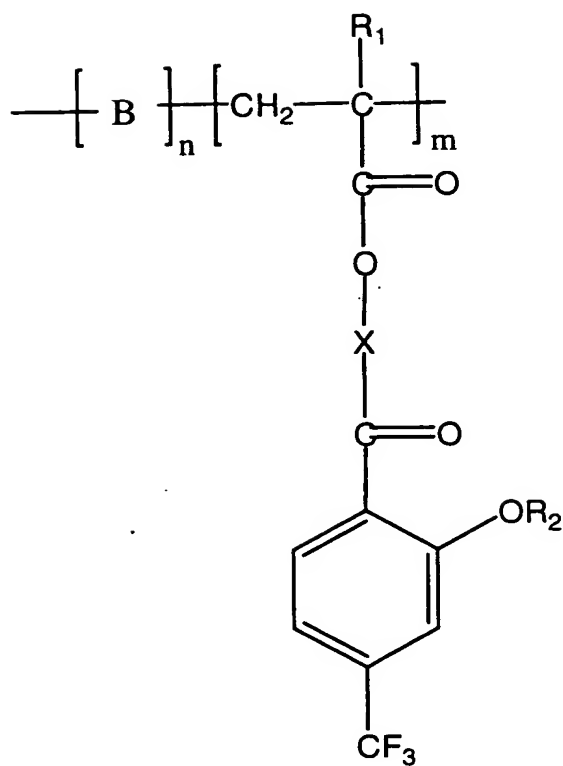
Los resultados obtenidos en este ensayo se muestran en la Fig. 6, donde se observa una liberación de HTB del polímero del ejemplo 3 que es tiempo-dependiente.

Ejemplo 5: Ejemplo de preparación de una prótesis de Goretex® recubierta con un polímero de fórmula I

con solución de tampón de pH 7.4, se deshidratan en series graduales de acetona y se metalizan con oro/paladio para su estudio por MEB utilizando un microscopio electrónico de barrido Zeiss 950 DSM.

b) Resultados

- 5 Utilizando este ensayo, se ha observado que el recubrimiento de prótesis de Goretex® con una fina capa del polímero obtenido en el ejemplo 2 siguiendo el método descrito en el ejemplo 5 disminuye la retención de plaquetas en comparación con las mismas prótesis no recubiertas. Asimismo, el análisis por MEB muestra que las plaquetas se hallan menos agregadas en el caso de las
- 10 prótesis recubiertas, mientras que las prótesis no recubiertas (grupo control) presentan dominios coagulados de plaquetas agregadas con una fuerte adhesión a la estructura porosa de la superficie de Goretex®. Estos resultados demuestran la utilidad de los polímeros de la invención para mejorar las propiedades trombogénicas de biomateriales sintéticos.



(Ia)

en donde: R_1 representa hidrógeno ó C_{14} alquilo;

R_2 representa $-COCH_3$ ó hidrógeno;

X representa un grupo $-(CH_2CH_2O)_p-$;

p representa un número entero de 1 a 100; y

B, m y n tienen el significado descrito en la reivindicación 1.

6.- Un compuesto según la reivindicación 5 en donde R_1 representa metilo y p representa 1.

7.- Un compuesto según la reivindicación 6 en donde n representa 0.

8.- Un compuesto según la reivindicación 6 en donde n es distinto de 0.

9.- Un compuesto según la reivindicación 8 en donde B representa un residuo de metacrilato de 2-hidroxietilo, metacrilato de metilo, acrilato de metilo, vinilpirrolidona, ácido acrílico, ácido metacrílico, acrilamida, N,N-dimetilacrilamida o acetato de vinilo.

10.- Un compuesto según la reivindicación 9 en donde B representa un residuo de N,N-dimetilacrilamida.

11.- Un compuesto según la reivindicación 10 en donde m es 0.2 y n es 0.8.

12.- Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores de peso

Fig. 1

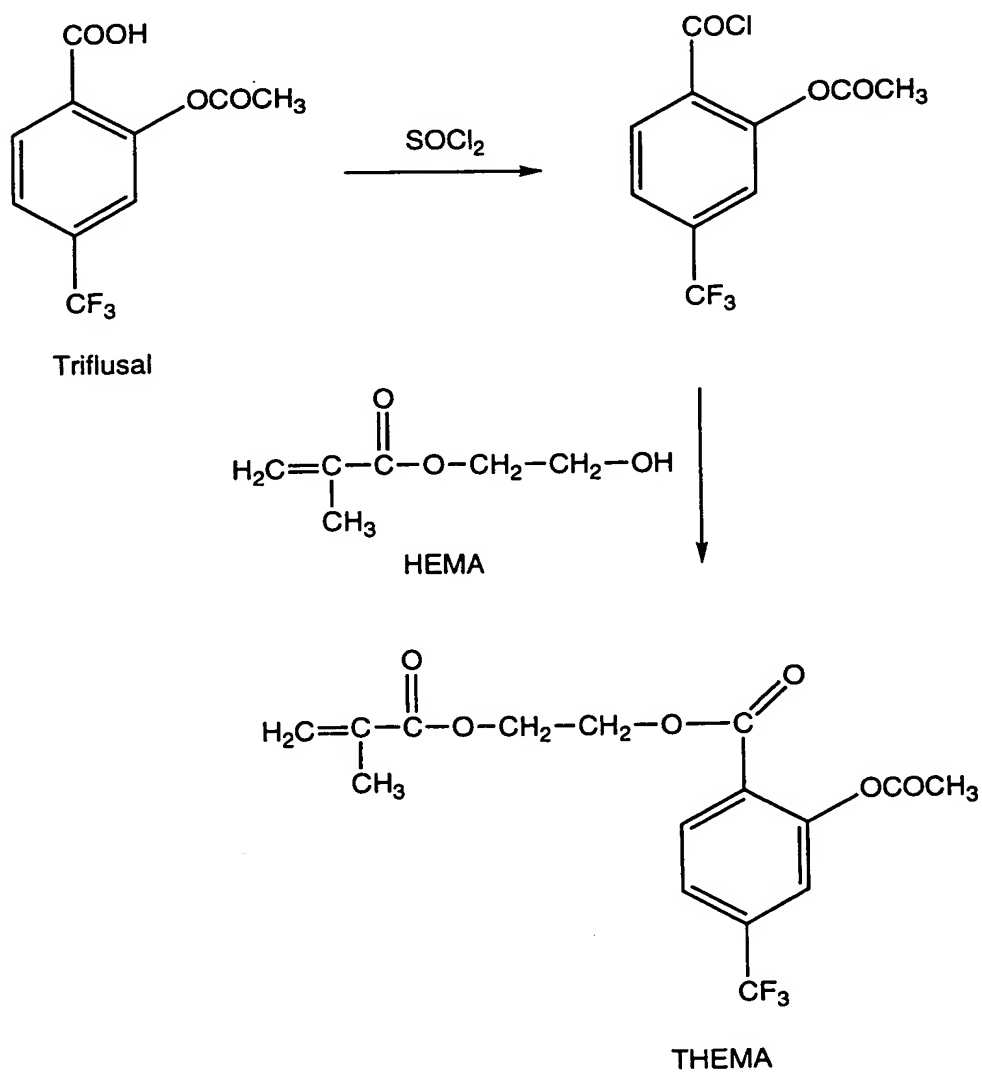
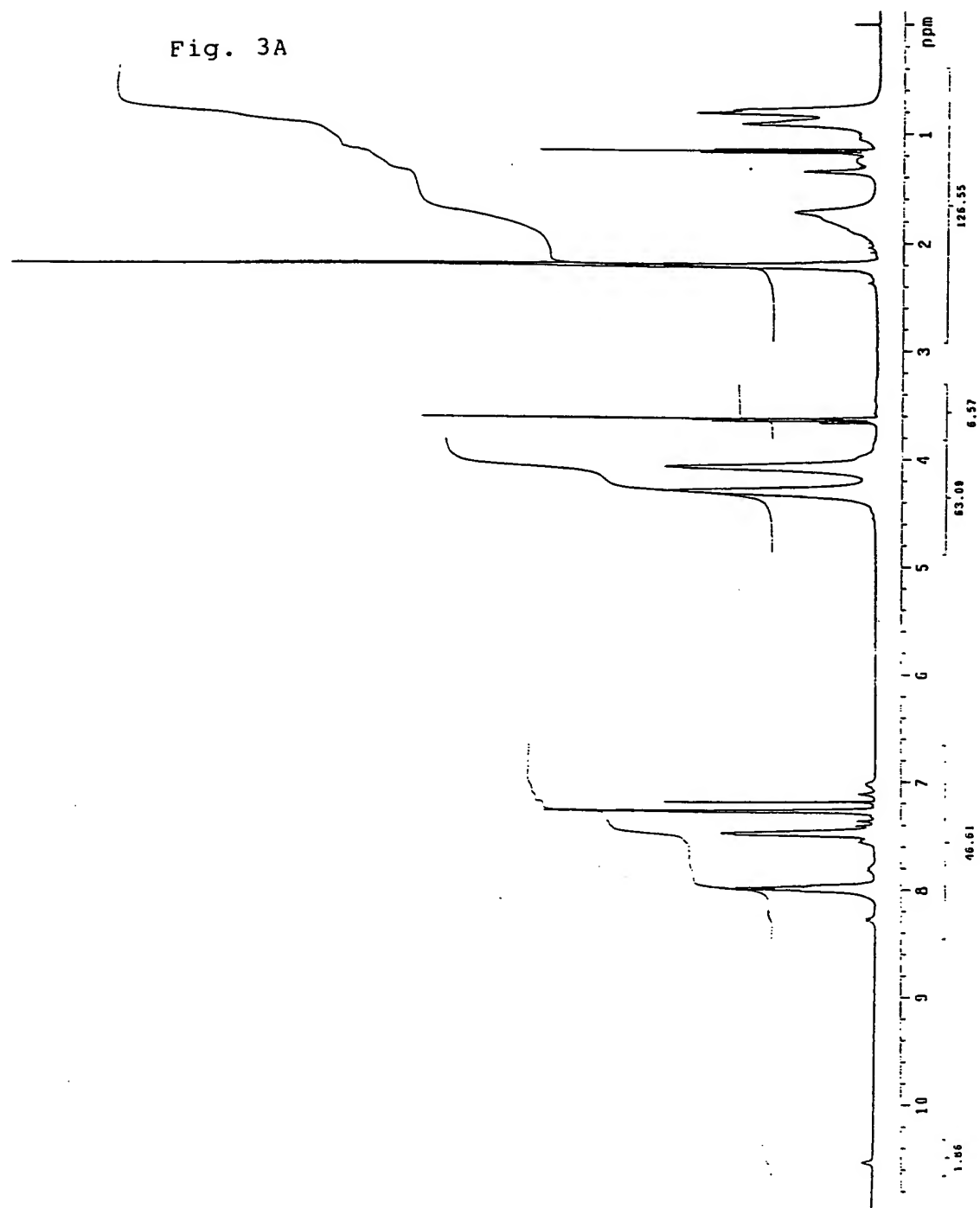


Fig. 3A



NMR 68531 80 01

Fig. 4

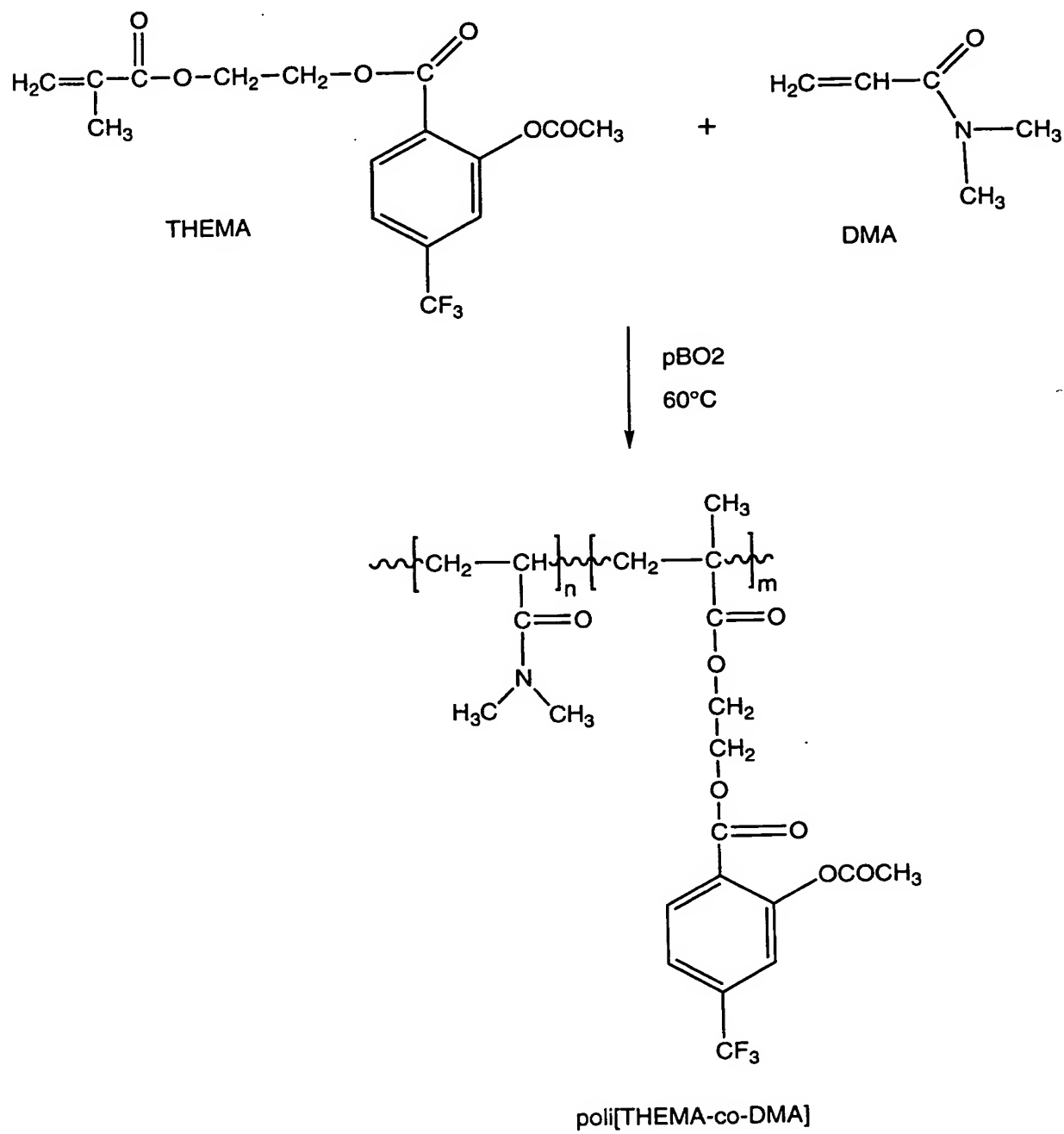
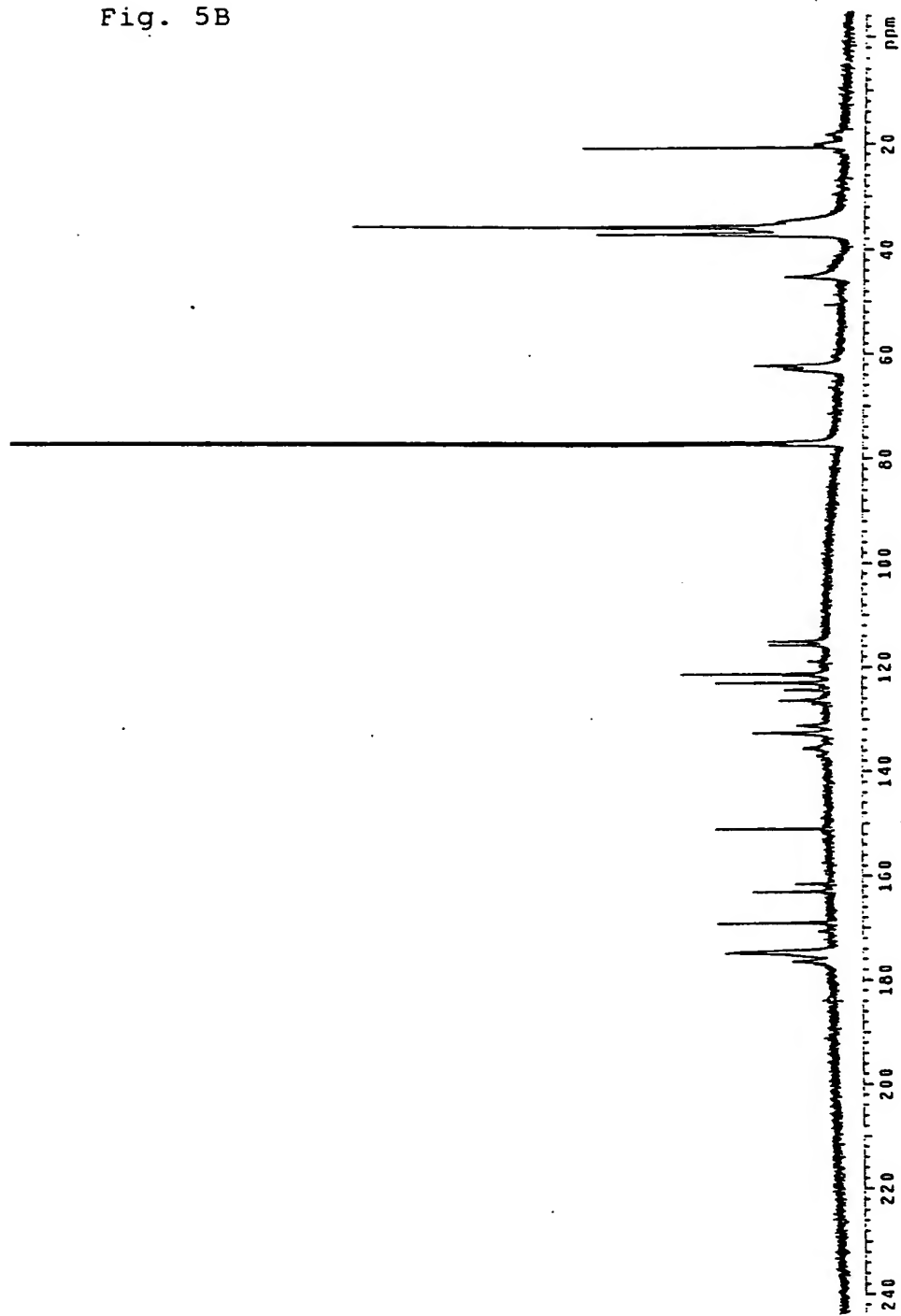


Fig. 5B

13C NMR (CDCl₃)

